

## اثر سرما بر مقدار آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ یونجه یکساله (*Medicago spp.*)

عباس قمری زارع<sup>۱</sup>، مریم جبلی<sup>۲</sup>، محمد فتحی پور<sup>۳</sup>

و حسین حیدری شریف آباد<sup>۱</sup>

### چکیده

پراکسیداز آنزیم شاخص تنشهای پایین دمایی در گیاهان است. سرما در یونجه باعث افزایش پراکسیداز می‌شود. همچنین پراکسیداز در کلیه مراحل بیوشیمی و پلیمریزاسیون گیاهی مثل لیگنین‌سازی نقش عمده‌ای ایفا می‌کند. این پژوهش به‌منظور نشان دادن اثر دماهای مختلف (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سانتیگراد و شرایط گلخانه) بر سطح آنزیم پراکسیداز در یونجه‌های یکساله انجام شد. نه ژنوتیپ از شش گونه یونجه یکساله در سیستم آبکشت و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد به‌مدت ۳۵ روز در یک اتاقک رشد استقرار یافتند. آنها به‌وسیله محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند و پس از ۴۴ روز مقدار آنزیم پراکسیداز آنها اندازه‌گیری شد.

در میزان پراکسیداز میان دماهای صفر و ۵ درجه سانتیگراد با سایر دماهای مورد آزمایش اختلاف زیادی مشاهده شد. بنابراین وقتی دمای محیط کاهش یافت مقدار آنزیم پراکسیداز یونجه‌های یکساله افزایش یافت. سطح آنزیم پراکسیداز و رفتار آن با تیمارهای دمایی محیط در گونه‌های مختلف یونجه یکساله مورد مطالعه متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، یونجه یکساله، *Medicago spp.*، سرما و رشد رویشی.

۱- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ص.ب. ۱۳۱۸۵-۱۱۶.

۲- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ص.ب. ۱۳۱۸۵-۱۱۶

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد سابق، دانشگاه آزاد، واحد جیرفت.

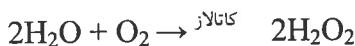
## مقدمه

یکی از ویژگیهای یک گیاه پاسخ به تغییرات دمای محیط است که هر قدر این توانایی بیشتر باشد گیاه در مناطق وسیعتری گسترش پیدا می‌کند. یونجه گیاهی است با سازگاری وسیع و در بسیاری از مناطق جهان کشت می‌شود. بسیاری از رویشگاههای یونجه یکساله و دیمزارهای غلات کشور که مناسب کشت این گونه برای تناوب کشت است در مناطق سردسیر واقع شده‌اند. جمعیتهایی که بتوانند در دمای پایین‌تر رشد رویشی خود را شروع کنند امکان تولید علوفه بیشتری را در اوایل فصل بهار وجود خواهد داشت.

آنژیمهای مؤثر در مقاومت به سرما شامل آمیلاز، پراکسیداز و کاتالاز می‌باشند. پراکسیداز وقتی وارد عمل می‌شود که در اثر سرما مقدار ماده سمی آب اکسیژنه در سلول بیش از اندازه تولید شده باشد. تأثیر پراکسیداز بر روی آب اکسیژنه طبق فرمول زیر (Korori و همکاران، ۱۹۹۲) است:

$$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{HA} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{A}$$

آنژیم کاتالاز نیز در سلولهای گیاهی و جانوری وقتی وارد عمل می‌شود که مقدار ماده سمی آب اکسیژنه در محیط زیاد باشد. تأثیر آنژیم کاتالاز بر آب اکسیژنه طبق فرمول زیر است:



اهمیت یونجه یکساله: جنس *Medicago spp.* گونه‌های مختلفی دارد که نزدیک به دو سوم آن گونه‌های یکساله هستند (Hanson، ۱۹۸۸). گونه‌های یکساله یونجه اغلب خود بارورند. این گونه‌ها که به طور عمده *Medic* نامیده می‌شوند از نواحی مدیترانه‌ای که دارای بارندگی سالانه ۲۵۰ تا ۵۰۰ میلیمتر هستند منشاً گرفته‌اند (Crawford، ۱۹۸۳). در این نواحی بیشتر یونجه‌های یکساله در طول زمستان رشد می‌کنند. تولید بذر زیاد جهت دوام رویش یونجه‌های یکساله امری ضروری است. سختی

بذر که موجب زنده ماندن بذر در خاک می‌شود به گونه‌ها امکان می‌دهد که در دوره‌های طولانی خشکی دوام بیاورند. یونجه‌های یکساله در اصل در برابر تنفس خشکی مقاوم هستند و این مقاومت موجب می‌شود که در مناطق دارای بارندگی کم رویش مناسبی داشته باشند (Moynihan و همکاران ۱۹۹۶). یونجه‌های یکساله در برابر سرما نیز مقاومت نشان داده و از نظر مقاومت به آفات، بنیه گیاهچه، تولید علوفه با کیفیت بالا، تولید بذر زیاد و تنوع صفات مورفو‌لوزیکی نیز مناسب هستند (Barnes و De Hann ۱۹۹۸).

مناطق رویش کاشت یونجه‌های یکساله در ایران به هفت ناحیه تقسیم می‌شود (سنگل و ملکپور، ۱۳۷۳):

- ۱- منطقه جنوب غرب و اطراف دزفول در شمال خوزستان.
- ۲- مناطق شمالی و نیمه مدیترانه‌ای مجاور دریاچه خزر.
- ۳- منطقه شمالی آذربایجان.
- ۴- تبریز، اردبیل، شمال ارومیه، اراک، همدان و جنوب سنتوج.
- ۵- نواحی ساحلی خلیج فارس، اهواز، بوشهر تا بندرلنگه.
- ۶- اطراف مشهد، شهرود، نیشابور، فریمان، شمال مشهد به طرف مرز ایران و ترکمنستان تا سرخس.
- ۷- شمال غرب و جنوب شیراز.

این تقسیم‌بندی نشان می‌دهد که دمای پایین در بسیاری از مناطق به خصوص مناطق ۳، ۴ و ۶ عامل محدودکننده رویش یونجه یکساله و یا حداقل باعث تأخیر در شروع رشد رویشی آنان است.

**پراکسیدازها:** پراکسیداز هموپروتئینی است که وجود آن برای فعالیت آنزیمی پروتئین ضرورت دارد. پراکسیداز آنزیم اکسیدوردوکتازی است که دارای کد

E C 1.1.11.1.X بوده (Van Hugstes و Esnault ۱۹۹۲) و بر اساس شباهت توالی ژنی و اختصاصات و دگرگونی‌های پس از ترجمه به ۳ رده تقسیم می‌شود (Welinder، ۱۹۹۴). رده سوم آنها مربوط به پراکسیدازهای گیاهی می‌شود. این پراکسیدازها با وزن مولکولی ۳۱ تا ۳۶ کیلو دالتون و با تعدادی از الکترون دهنده‌ها بر هم کنش دارند. پراکسیدازهای گیاهی در دکربوکسیلاسیون اکسین، بیوستز اتیلن، چوبی شدن دیواره سلولی و پاسخ به تنش شرکت می‌کنند (Siegel و Castillo ۱۹۸۶). ضمن بیان پیچیدگی‌های بین آنزیم پراکسیداز و تنش، آن را شاخص تنشهای دمایی معرفی کردند که در کلیه مراحل بیوشیمی و پلیمریزاسیون گیاهی مثل لیگنین‌سازی نقش عمده‌ای ایفاء می‌کند.

نقش پراکسیدازها در کترل رشد سلولهای گیاهی: یکی از نقشهای مهم پراکسیدازها، کترل رشد سلول است. پراکسیدازها به وسیله تغییر مقدار اندول ۳-استیک اسید (IAA) و به عبارت دقیق‌تر به وسیله کاتابولیسم اکسیداتیو IAA رشد را تنظیم می‌کنند. به علاوه پراکسیداز با ایجاد اتصال عرضی بین پلیمرهای فنلی دیواره سلول، ارتجاع‌پذیری دیواره را کاهش می‌دهد.

پراکسیدازهای گیاهی و تمایز سلولی: پراکسیدازها توسط دو ساخت و ساز اصلی بر تمایز سلولهای گیاهی اثر می‌گذارند. نخست پراکسیدازها می‌توانند غلظت هورمونهای گیاهی را که روی سلولها و یا بافت‌های خاصی عمل می‌کنند تغییر دهند یعنی حساسیت آن سلولها یا بافت‌ها را در برابر هورمون گیاهی تنظیم نمایند، دوم پراکسیدازها می‌توانند با کاتالیز نمودن واکنش اتصال عرضی ترکیب‌های دیواره سلولی، شکل یا اندازه نهایی سلول را کترل کنند (Mc Dogall، ۱۹۹۲).

پراکسیدازها و تنش سرما: هر عامل محیطی یا فیزیکی - شیمیایی که بتواند فشار خاصی به موجود زنده تحمیل کند تنش نامیده می‌شود. در واقع تمامی پاسخهای

متابولیسمی نشان دهنده آسیب واردہ به گیاه در شرایط تنفس و برخی بیانگر سازگاری گیاه به شرایط تنفس می‌باشدند. در این میان پراکسیداز آنزیمی است که در مقابل پاسخ به تنفس سرما تولید می‌شود (Levit, ۱۹۸۰).

تعدادی از گیاهان مناطق گرم‌سیری در هنگام کاهش دما آسیب می‌بینند. این آسیب به شکل فاسد شدن، زرد شدن، تجزیه بافتی، قهوه‌ای شدن، کاهش رشد و عدم توان جوانه‌زنی دانه بروز می‌کند. همین‌طور آسیبهای غیر مستقیمی مانند کاهش دانه‌بندی، به تأخیر افتادن فصل برداشت، کاهش فتوستتر و جذب نیز ممکن است اتفاق بیفتد. Kuroda و همکاران (۱۹۹۱) ارتباط بین سیستمهای حذف پراکسیداز و آب و هوای سرد را در کالوس بررسی کردند. آنها پس از انتقال نمونه‌ها به سرما مشاهده کردند که سرعت فعالیت آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافته و تغییرات تقسیم واکوئل و ضخیم شدن دیواره سلولی را مشاهده نمودند.

Korori و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که بین فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز و سازگاری در برابر سرما در گیاهان مختلف ارتباط مثبتی وجود دارد. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که افزایش سرما سیستمهای متabolیکی بسیاری را در گیاه متأثر می‌کند که یکی از آنها افزایش سیستمهای حذف کننده پراکسیدازی است که در دو مرحله بروز می‌کند. در مرحله اول، فعالیتهای آنزیمی درگیر در تجزیه پراکسیدها مانند آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافته و در مرحله دوم سیستم آنزیمی که برای سمتیزدایی پراکسیدها توسعه یافته‌اند به چرخه پنتوز فسفات متصل می‌شود.

این آزمایش بهمنظور تعیین اثر سرما بر رشد رویشی ۹ جمعیت از ۵ گونه یونجه یکساله و تاثیر آن بر میزان آنزیم پراکسیداز گیاهی انجام گرفت.

## مواد و روشها

در این پژوهش از تعداد ۹ ژنوتیپ از ۵ گونه یونجه یکساله شامل: از *M. rigidula* از مناطق کردستان و گرگان، *M. radiata* از مناطق ارومیه و کرمانشاه، *M. truncatula* از گیلانغرب و یک واریته *M. orbicularis* از استرالیا، *M. truncata* از گیلانغرب و یک واریته *M. polymorpha* از شیلی استفاده شد. پس از ۳۵ روز بهمنظور استقرار در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد به تیمارهای دمایی صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ درجه سانتیگراد و همچنین دمای گلخانه منتقل شدند و پس از ۴۴ روز از آنها نمونه‌گیری شد. سپس یک گرم از برگ‌های گیاه جدا گردید و بلافاصله عصاره‌گیری شدند. نمونه‌های برگ پس از خرد شدن به طور کامل در هاون ظرفی ساییده شد. محلول عصاره‌گیری شامل ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۳/۶ گرم نمک طعام، ۲ گرم EDTA-Na<sub>2</sub> و ۵۰ پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000 بود. این مواد در آب مقطر حل و بعد به حجم یک لیتر رسانده شد. جهت عصاره‌گیری یک گرم از نمونه برگ را با ۴ میلی‌لیتر از محلول عصاره‌گیری مخلوط کرده و نمونه‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و بعد در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از قسمت سطحی و شفاف این نمونه‌ها جهت انجام الکتروفورز و بررسیهای اسپکتروفتومتری استفاده شد. جهت انجام آزمایش‌های کیفی پراکسیداز از روش تامپون استات ۰/۲ مولار به اضافه معرف بنزیدین استفاده شد.

### طرز تهیه تامپون استات:

- ۱) ۲۵ گرم استات سدیم محلول در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر.
  - ۲) ۱۱/۲ میلی‌لیتر اسید استیک محلول در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر.
- سپس ۴ میلی‌لیتر از هر یک از دو محلول بالا با هم ترکیب گردید. تامپون استات بدست آمده با pH=۶ قابل استفاده است (Korori و همکاران ۱۹۹۲).
- روش ظاهر کردن و خواندن طیف رنگی مربوط به پراکسیداز: مقدار ۲ میلی‌لیتر از تامپون استات، ۴ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزیدین ۰/۰۱ مولار در لوله آزمایش مخلوط شد و بلا فاصله ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره آنزیم به آن اضافه شد. سپس

منحنی تغییرات آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرات گردید (Korori و همکاران ۱۹۹۲).

## نتایج

آنزمیم پراکسیداز در بعضی از ژنتیپهای یونجه تحت تأثیر تیمارهای دمایی به شدت واکنش نشان می‌دهد. میزان آنزمیم پراکسیداز در تیمارهای دمایی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سانتیگراد و تیمار گلخانه با هم تغییرات چندانی را نشان نداد (شکل شماره ۱). اما در تیمار ۵ درجه سانتیگراد میزان آنزمیم پراکسیداز اختلاف زیادی را با تیمار ۱۰ درجه سانتیگراد نشان داد. همچنین مقدار آنزمیم پراکسیداز در تیمار صفر درجه افزایش یافته و با مقدار آنزمیم در تیمار ۵ درجه سانتیگراد اختلاف زیادی نشان داد.

در میان ژنتیپها بیشترین افزایش آنزمیم پراکسیداز در تنش اول مربوط به *M. radiata* از کرمانشاه و بعد از آن *M. radiata* از ارومیه، *M. orbicularis* از گیلانغرب، *M. rigidula* از گرگان و *M. rigidala* از کردستان بوده و بقیه ژنتیپها افزایش چندانی را در شرایط تنش نشان ندادند (شکل شماره ۲). ژنتیپ *M. radiata* از کرمانشاه از تیمار دمایی گلخانه تا تیمار دمایی ۱۰ درجه سانتیگراد تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت، اما از تیمار ۱۰ درجه سانتیگراد تا ۵ درجه سانتیگراد به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. این روند افزایشی از ۵ تا صفر درجه هم وجود داشت که مقدار آن چشمگیر بود. تغییرات در ژنتیپ *M. radiata* از ارومیه به شکل دیگری بود. در این ژنتیپ تغییرات از تیمار گلخانه تا ۵ درجه سانتیگراد بسیار کم و فقط یک افزایش ناگهانی از تیمار ۵ تا صفر درجه سانتیگراد دیده شد.

ژنتیپ *M. orbicularis* از گیلانغرب بیشترین افزایش آنزمیم پراکسیداز را از تیمار گلخانه تا ۲۰ درجه سانتیگراد داشت و از تیمار ۲۰ درجه سانتیگراد تا صفر درجه با کاهش درجه حرارت مقدار آنزمیم به صورت خطی افزایش یافت. در ژنتیپ *M. rigidula* از گرگان مقدار آنزمیم پراکسیداز در تیمارهای گلخانه و ۲۰ درجه سانتیگراد بدون تغییر قابل ملاحظه‌ای بود و یک کاهش جزئی نسبت به دو تیمار یاد شده در ۱۵ درجه سانتیگراد وجود داشت. از تیمار ۱۵ درجه سانتیگراد تا ۱۰ درجه سانتیگراد یک تغییر ناگهانی در افزایش آنزمیم دیده شد و از ۱۰ درجه سانتیگراد تا صفر

درجه سانتیگراد مقدار آنزیم با کاهش درجه حرارت به مقدار جزیی و به صورت خطی افزایش یافت. ژنوتیپ *M. rigidula* از کردستان در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نسبت به تیمار گلخانه افزایش آنزیم داشت که این تغییر خیلی زیاد نبود. در فاصله دمایی ۲۰ تا ۱۵ درجه سانتیگراد یک کاهش قابل ملاحظه دیده شد. از دمای ۱۵ به ۱۰ درجه سانتیگراد افزایش کمی داشت. از دمای ۱۰ به ۵ درجه سانتیگراد مقدار آنزیم پراکسیداز به طور ناگهانی افزایش یافت. افزایش آنزیم با پایین آمدن درجه حرارت و رسیدن آن به صفر ادامه داشت، ولی این افزایش چندان زیاد به نظر نرسید.

ژنوتیپ *M. trancatula* var. *Mogal* از استرالیا کاهش قابل توجهی از تیمار گلخانه تا ۲۰°C نشان داد. میزان آنزیم از تیمار ۲۰ به ۵ درجه سانتیگراد به طور تقریبی ثابت بود. این آنزیم از ۵ درجه سانتیگراد به صفر درجه افزایش زیادی را نشان داد. کاهش آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ *M. orbicularis* از گرگان از تیمار گلخانه تا ۲۰°C بسیار کم بوده و از ۲۰ درجه به صفر درجه سانتیگراد به طور تقریبی بدون تغییر باقی ماند. ژنوتیپهای *M. truncatula* و *M. polymorpha* var. *Santiago* سرما افزایش قابل ملاحظه‌ای در مقدار آنزیم از خود نشان ندادند.

## بحث

براساس تحقیقات Ebermann (۱۹۷۵) و Castillo (۱۹۸۶) میزان فعالیت دو آنزیم پراکسیداز و آمیلاز در فصل سرما چند برابر فصل گرماست. در مورد یونجه‌های یکساله مورد مطالعه بیشترین مقدار آنزیم در کمترین درجه حرارت (صفر درجه) دیده شده است (شکل شماره ۱). بحث دیگر پاسخ به این پرسش است که آیا گیاهانی که الگوهای آنزیمی آنها تحت تاثیر تنشهای دماهای مختلف واکنشی و سریعتر با دامنه وسیعتر نشان می‌دهند نسبت به شرایط زیست محیطی حاد مقاومت بیشتری دارند یا خیر؟ تحقیقات ثابت کرده است گیاهانی که تحت تیمارهای دمایی مختلف کمترین واکنش را از جهت کمی و بیشترین واکنش را از نظر کیفی نشان داده‌اند، به طور معمول قادر هستند بدون آنکه در فیزیولوژی و مورفولوژی آنها تغییر رخ دهد، تغییرات شدید

محیطی را تحمل کنند (Korori، ۱۹۹۲). در این تحقیق، یونجه‌های یکساله‌ای که بیشترین مقدار تولید آنزیم پراکسیداز را داشته‌اند مانند نمونه *M. rigidula* از کردستان و گرگان و *M. radiata* از مناطق ارومیه و کرمانشاه از نظر کمی کمترین تغییرات نسبت به سطوح مختلف دما را از خود نشان داده‌اند و از نظر جوانه‌زنی و همین‌طور رشد رویشی کمترین تغییر را نشان داده‌اند.

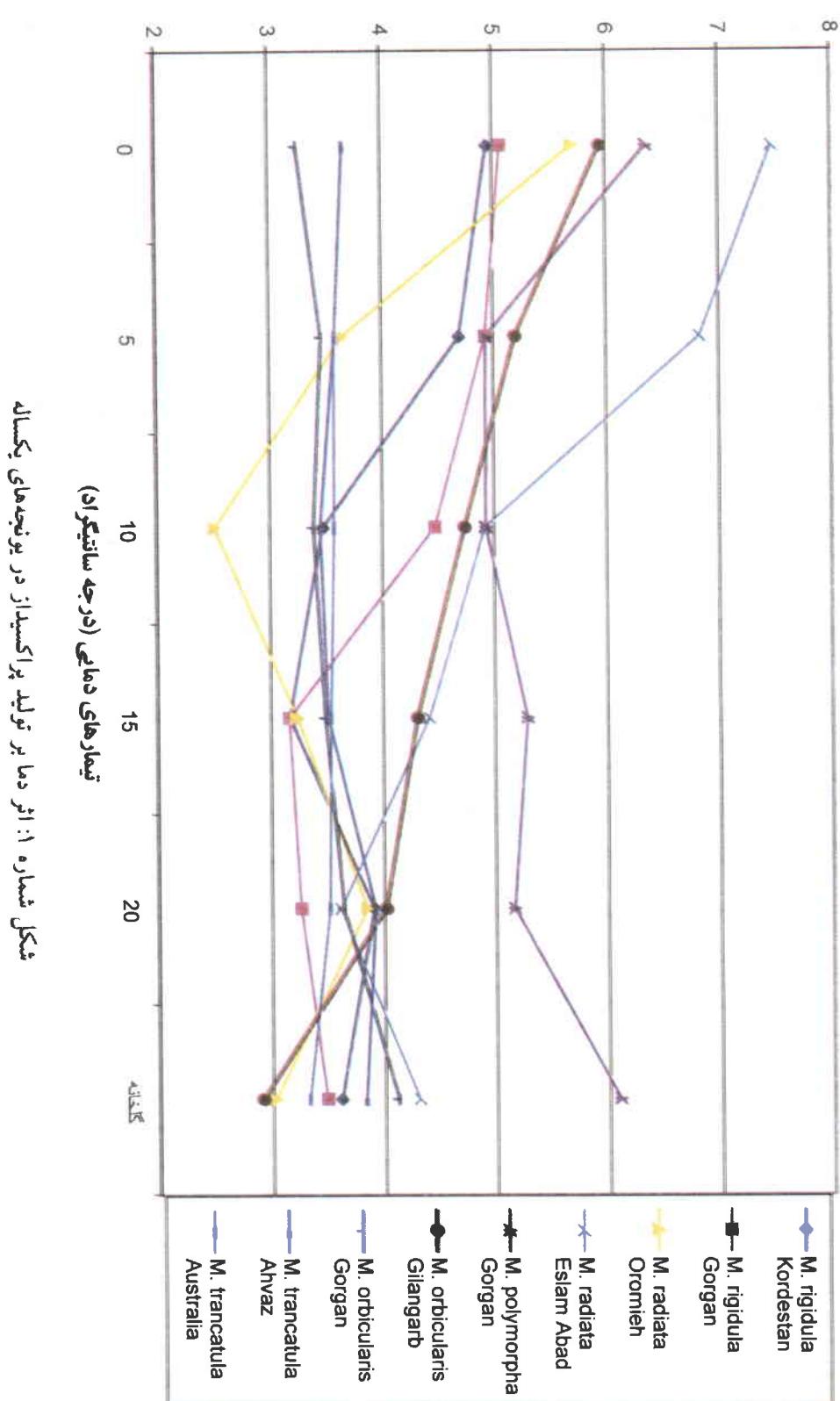
آنژیم پراکسیداز منعکس کننده تنشهای محیطی است (Kammerer، ۱۹۹۳). مقدار طبیعی این آنزیم با سرد شدن هوا افزایش می‌یابد. این مطالعات نشان داد که با پایین آمدن درجه حرارت میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر می‌شود.

### نتیجه‌گیری و پیشنهادها

آنژیم پراکسیداز در بعضی از ژنوتیپهای یونجه تحت تأثیر تیمارهای دمایی بهشت و اکشن نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق (شکل شماره ۱) نشان داد که بهطور کلی در ۹ ژنوتیپ از یونجه‌های یکساله مورد مطالعه در دماهای پایین (صفر و ۵ درجه سانتیگراد)، نسبت به سایر دماها تولید آنزیم پراکسیداز بیشتر بود. دمایی که موجب آسیب و مرگ سلولی می‌شود بهطور دقیق قابل تشخیص نیست. در هر دو حالت سرد شدن و انجماد یک دمای بحرانی وجود دارد که دماهای پایین‌تر باعث آسیب می‌شوند (Graham و Patterson، ۱۹۸۲). بنابراین برای تعیین این دمای بحرانی لازم است در تحقیقات تکمیلی دماهای زیر صفر نیز مورد آزمایش قرار گیرندو<sup>۱</sup> LT<sub>50</sub> هر ژنوتیپ بهطور دقیق مشخص شود (Zare، Ghamari Zare، ۱۹۹۶). با استفاده از LT<sub>50</sub> و همچنین حداقل دمای اقلیمهای مختلف امکان معرفی ژنوتیپهای مناسب برای هر منطقه اقلیمی فراهم خواهد شد.

۱- دمای کشنده ۵۰٪ جمعیت گیاهی (The lethal temperature for 50% Kill)

مقدار جدب پراکسیداز در علوفه‌تر (Ab/min/gr/FW)



شکل شماره ۱: اثر دما بر تولید پراکسیداز در یونجه‌های پکساله

## منابع

سندگل، ع. و ملکپور ب. ۱۳۷۳. مروری بر تحقیقات انجام شده و در حال اجرا در رابطه با یونجه‌های یکساله در ایران و تدوین برنامه کار برای آینده. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، شماره انتشار ۱۰۲، ۲۲ صفحه.

- Crawford, E.J., 1983. Selecting cultivars from naturally occurring genotypes, Evaluating annual *Medicago* species. In: MC Ivor, J.G. Genetic Resources of Forage Plants. Melbourne, Australia: CSIRO, 203-215.
- Castillo, F.J. 1986. Extracellular peroxidase as marker of stress. In: Molecular and physiological of plant of peroxidase. P.20, University of Geneva, Switzerland.
- De Haan, R.L. and Barnes D.K. 1998. Inheritance of pod type stems color, and dwarf growth habit in *Medicago polymorpha*. Crop Science, 38: 1558-1561.
- Ebermann, R. 1975. Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung in native starken durch gel chromatography. Strake, 329-333.
- Graham, D., and B.D. Patterson. 1982. Responses of oilplants to low, non freezing temperature; proteins, metabolism and acclimation Annu. Rev. Plant Physiol. 33:347-372.
- Ghamari Zare, A 1996. Anther culture in intergeneric hybrid of forage grasses. Ph.D. theses. The University of Liverpool, Liverpool, UK, pp.313.
- Hanson, C.H. and Barnes D.K. 1988. Alfalfa. In: M.E. Heath, D.S. Metcalf and R.F. Barnes (eds). Forages, The Science of Grassland Agriculture, The lowest. Univ. Press, Ames, Iowa, pp. 136-137.
- Kammerer, S. 1993. Seasonal changes of peroxidase isoenzymes and activity of fraction containing plants.
- Korori, S.A.A. 1992. Die enzymatische Antwort der Bauwe auf umweltveränderungen am Beispiel Von peroxidase und Katalase Libensmittel & Biotechnologie, 5:226-229.
- Korori, S.A.A., Hinterstoisser B., Long M. and Ebermann, R. 1992. Seasonal alteration of plant peroxidase isoenzymes pattern in *Larix decidua*. Vol. 32:307-313.
- Kuroda, H. Sagiska, Asada S.M. and Chilba, K. 1991. Peroxide-scavenging system during cold acclimation of apple callus in culture. Plant Cell Physiol., 32:635-647.
- Levitt, J. 1980. Measurement of drought avoidance. In Responses of Plant

- Environmental Stresses, Vol. 2. Academic, New York.
- Mc Dogall, G.J. 1992. Plant peroxidase and cell differential. Plant Peroxides, 180-190.
- Moynihan, J.M., Simons, S.R. and Co Sheaffer C. 1996. Inter-cropping annul medic with confessional height and semi-dwarf barley grown for grain. Agronomy Journal, 88: 823-828.
- Siegel, S.M. and Castillo, B.Z. 1986. Peroxidase activity and stress: a complex relationship. In: H Greppin. Molecular and Physiological Aspect of Plant Peroxidase. Univ. Geneva., 427-432.
- Van Hugstec R.B. and Esnault, R. 1992. Structure and biosynthesis of peroxidase from peanut cell. Plant Peroxidase, 1986-1996.
- Welinder, K.G. 1994. Plant Peroxidase: Structure-Function relationships. Plant Peroxidase, 1980-1990.